

PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DAN UJI AKTIVITAS ANTIVIRUS EKSTRAK ETANOL DAUN TAPAK LIMAN (*Elephantopus scaber* L.) TERHADAP VIRUS *Avian influenza*

Feni Nurul Hidayanti, Diniatik, Ika Yuni Astuti

Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Jl. Raya Dukuwaluh Purwokerto 53182 PO. Box 202**ABSTRAK**

Virus merupakan parasit berukuran mikroskopik, menginfeksi sel organisme biologis, dan hanya dapat bereproduksi dalam material hidup. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas antivirus dari ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) terhadap Virus *Avian influenza* beserta profil kromatografi lapis tipisnya. Ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan cairan penyari etanol 96 %.

Uji aktifitas antivirus ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) menggunakan uji hemaglutinasi, uji hemaglutinasi dilakukan untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) terhadap virus *Avian influenza*. Penelitian ini dianalisis dengan Uji T dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil analisis golongan senyawa ekstrak etanol daun tapak liman menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).

Hasil uji aktifitas antivirus terhadap virus *Avian influenza* pada konsentrasi dosis 100µg/mL, 10µg/mL, 1µg/mL menunjukkan daya hambat rata-rata tiap konsentrasi, pada konsentrasi 100µg/ml adalah 96,737%, pada konsentrasi 10µg/ml adalah -700%, dan pada konsentrasi 1µg/ml adalah -775%. Hasil pengujian kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantophus scaber* L) mengandung golongan senyawa flavonoid, seskuiterpen lakton dan steroid.

Kata kunci : antivirus, ekstrak etanol, tapak liman, *Avian Influenza*, lapis tipis.

ABSTRACT

Virus is the microscopic of measured parasite, to infection the organism cell, and only reproducing in material life. The purpose of this research is to know is there antiviral activity or not from the ethanol extract of tapak liman leaves (Elephantopus scaber L.) to Avian Influenza virus including thin layer chromatography profile. The extract was made by maceration method with using ethanol of 96%.

Test antiviral activity of ethanol extract tapak liman leaves (Elephantopus scaber L.) using hemaglutinasi test, the test is `performed to determine hemaglutinasi inhibit the ethanol extract of tapak liman leaves (Elephantopus scaber L.) against Avian influenza virus. This research was analyze with the T test with 95% confidence level. The results of group analyse the ethanol extract of tapak liman leaves (Elephantopus scaber L.) compounds tapak liman using thin layer chromatography (KLT).

Antiviral activity of test results against Avian influenza virus at the dose concentration of 100µg/ml, 10µg/ml, 1µg/ml shows the average drag each concentration, the concentration of 100µg/ml is 96,737%%, the concentration of 10µg/ml is -700%, and the

concentration of 1µg/ml is -775%. The results of thin layer chromatography test (KLT) showed that the ethanol extract of tapak liman leaves (Elephantopus scaber L.) contains a group of flavonoids compound, sesquiterpen lactone and steroid.

Keyword: antiviral, ethanol extract, tapak liman, Avian Influenza, thin layer

PENDAHULUAN

Virus merupakan parasit intrasel. Replikasi virus terutama bergantung pada proses sintesis sel inang (host). Konsekuensinya agar menjadi efektif, agen antivirus harus mampu memblokir keluar atau masuknya virus ke dan dari dalam sel atau menjadi aktif didalam sel inang. Oleh sebab itu penghambat nonselektif dari replikasi virus dapat mengganggu fungsi sel inang dan menyebabkan toksisitas (Katzung, 2004).

Virus dapat menyerang baik hewan maupun manusia, apalagi saat ini banyak ditemukan jenis virus yang mempunyai daya infeksi dan sifat patogen yang tinggi. Beberapa tahun terakhir ini perhatian dunia kesehatan terpusat kepada semakin merebaknya penularan virus avian influenza (H5N1). Meningkatnya kasus infeksi virus avian influenza yang menyebabkan kematian pada manusia sangat dikhawatirkan dapat berkembang menjadi wabah pandemik yang berbahaya bagi umat manusia di muka bumi ini (Radji, 2006).

Dengan mengetahui aktivitas pada virus *Avian influenza* tersebut maka diperlukan penelitian untuk mencari obat yang poten, selektif dengan efek samping yang rendah. Salah satu pendekatannya adalah melalui eksplorasi terhadap bahan alam terutama tumbuh-tumbuhan yang mempunyai potensi sebagai antivirus. Salah satu tumbuhan Indonesia yang telah banyak dimanfaatkan sebagai obat adalah tapak liman (*Elephantopus scaber* L.). Tanaman tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) termasuk dalam famili *astereracea* yang banyak tumbuh di Indonesia. Menurut Arisandi & Yovita (2006), tanaman ini memiliki khasiat untuk mengobati influenza, demam, amandel, radang tenggorokan, radang mata, disentri, diare, gigitan ular, batuk, sakit kuning, busung air, radang ginjal, bisul, kurang darah, radang rahim, keputihan. Hal ini juga bisa digunakan untuk mengobati hepatitis. Penelitian oleh Prayogi (2009) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) mampu

menghambat pertumbuhan virus *Newcastle Disease*, dengan berbagai konsentrasi yang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi semakin besar pula penghambatan terhadap virus.

METODELOGI PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.), untuk uji aktivitas antivirus digunakan telur ayam berembrio yang berumur 9-10 hari virus *Avian influenza* sub tipe H5N1

(A/chicken/Jogjakarta/MHW/2010) yang berasal dari koleksi drh. M Haryadi Wibowo, MP., oseltamivir, eritrosit ayam, bahan kimia yang digunakan adalah etanol 96% teknis (Brataco chemical), etanol 70% teknis (Brataco chemical), *iodine tincture* (betadine), Larutan PBS (*Phosphat Buffer Saline*) pH 7.2, parafin padat, lempeng silika gel GF254 (Merck), lempeng selolosa (Merck), asam asetat 15%, heksana, etil asetat, metanol, pereaksi *Lieberman-Burchard*, vanillin-asam sulfat, sitroborat, kloroform, eter, aquabides dan rutin pa (Sigma) sebagai pembanding.

Alat

- a. Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan serbuk yaitu : mesin penyerbuk, alat saring, alat gelas.
- b. Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak : bejana untuk maserasi, alat timbang, sendok pengaduk, kain saring,
- c. Alat uji Antivirus antara lain : alat-alat gelas, autoklaf, timbangan analitik, inkubator (NaiseTMIR autoflow), LAV, nampan telur, spuit injeksi, 96 well plate (Nunc[®]), diluter (Gilson[®]), mikro pipet (Gilson[®]), kanul, flakon, lampu spiritus, bor telur, pinset, gunting, kotak kerabang.
- d. Alat untuk deteksi senyawa menggunakan KLT : Alat-alat gelas, lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, bejana KLT.

Jalannya Penelitian

Determinasi Tanaman Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.)

Determinasi tanaman tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) dilakukan di laboratorium Morfologi dan Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Jendral Soedirman Purwokerto. Dengan menggunakan buku acuan karangan Backer dan Van Den Brink (1965).

Pengumpulan dan Pengeringan Bahan

Daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) didapat dari lingkungan Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Dukuhwaluh, kecamatan Kembaran, Purwokerto. Pada penelitian ini digunakan daun segar dari tanaman tapak liman (*Elephantopus scaber* L.). Daun yang telah dikumpulkan dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran atau kontaminan yang menempel. Setelah daun dibersihkan lalu diangin-anginkan dan dikeringkan dalam almari pengering sampai daun mudah untuk dihancurkan ketika diremas. Simplisia daun tapak liman (*Elaphantopus scaber* L.) yang diperoleh, diserbuk menggunakan mesin penyerbuk.

Pengayakan Simplisia

Simplisia yang telah diserbuk lalu diayak menggunakan ayakan mesh 20/40, dimana simplisia sebanyak 200 gram simplisia kering daun tapak liman (*Elaphantopus scaber* L.) sebanyak 60% lolos pada ayakan mesh 20, dan sebanyak 40% simplisia kering daun tapak liman (*Elaphantopus scaber* L.) lolos pada ayakan mesh 40.

Pembuatan Ekstrak

Dalam pembuatan ekstrak digunakan teknik maserasi menggunakan penyari etanol 96%. Menggunakan perbandingan

penyari dengan simplisia (1:10) untuk hari pertama, saring dengan kain penyaring selanjutnya ampas diekstraksi kembali dengan penyari etanol 96% (1:4) untuk hari kedua. Maserat diuapkan penyarinya hingga diperoleh ekstrak kental daun tapak liman (*Elaphantopus scaber* L.). Ekstrak yang diperoleh digunakan untuk melakukan uji aktivitas terhadap virus *Avian influenza*.

Identifikasi Golongan Senyawa dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis 2-003-06166-6

Identifikasi golongan senyawa dengan metode kromatografi lapis tipis dilakukan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa dalam ekstrak etanol daun tapak liman yang mempunyai potensi sebagai antivirus. Deteksi senyawa flavonoid dilakukan sebagai berikut : Fase diam: selulosa, fase gerak: asam asetat 15 % , pereaksi semprot: sitroborat, pembanding: rutin, reaksi positif jika terjadi warna kuning pada lampu UV 366 nm (Harborne, 1987)

Deteksi senyawa saponin dilakukan sebagai berikut : Fase diam: silika gel F 254, fase gerak: kloroform : methanol : air (64:50:10), : pereaksi semprot vanillin-asam sulfat (Harborne, 1987)

Deteksi senyawa seskuiterpen lakton dilakukan sebagai berikut : fase diam : silika gel F 254, fase gerak: benzene : methanol (9:1),(Harborne, 1987)

Deteksi senyawa steroid dilakukan sebagai berikut :fase diam: silika gel, fase gerak: heksana-eter (97:3) (Harborne, 1987)

Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas dan alat untuk inokulasi yang akan digunakan dicuci bersih dan dikeringkan. Kemudian dibungkus lalu disterilkan menggunakan oven dengan suhu 170°C selama 1 jam untuk alat-alat gelas yang tahan pemanasan tinggi, dan autoklaf pada suhu 120°C selama 20 menit untuk alat- alat yang tidak tahan terhadap pemanasan tinggi.

Uji Aktivitas Terhadap Virus *Avian Influenza*

Uji ini dilakukan terhadap semua ekstrak etanol daun tapak liman hasil isolasi yang bertempat di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada. Uji ini dibagi dalam 4 kelompok perlakuan pada semua ekstrak, masing-masing kelompok terdiri dari 3 telur ayam berembrio. Pada uji ini membutuhkan virus *Avian influenza* sebanyak 0,2 mL yang diinokulasikan pada telur ayam berembrio.

a. Kelompok I :

Diberi ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) 1 µg/ mL dan virus *Avian influenza* sebanyak 0,2 mL

b. Kelompok II :

Diberi ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) 10 µg/ mL dan virus *Avian influenza* sebanyak 0,2 mL

c. Kelompok III :

Diberi ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) 100 µg/ mL dan virus *Avian influenza* sebanyak 0,2 mL

d. Kelompok IV :

Diberi virus *Avian influenza* sebanyak 0,2 mL tanpa ekstrak etanol daun tapak liman

e. Kelompok V :

Diberi oseltamivir sebagai kontrol positif sebanyak 0,1% dan virus *Avian influenza* sebanyak 0,2 mL. Untuk masing-masing uji dilakukan dengan replikasi 3 kali.

Cara kerja uji ini adalah sebagai berikut:

a. Persiapan Telur Uji

Telur berembrio yang digunakan telah dieramkan 9-11 hari, kemudian diperiksa dengan lampu di dalam kotak kerabang.

Bagian kepala embrio dan batas rongga hawa diberi tanda dengan pensil. Telur ditempatkan pada inkubator dengan suhu 37°C.

b. Inokulasi Virus dan Sampel ke Dalam Ruang Alantois

Kutub telur yang mengandung rongga hawa dan di sekitar kepala embrio terlebih dahulu didesinfeksi dengan cara menyeka permukaan menggunakan kain kasa yang telah dibasahi *iodine tincture*, kemudian dibuat lubang dengan bor pada telur yang sudah ditandai sebelumnya. Sebanyak 0,2 mL suspensi virus diinokulasikan ke dalam ruang alantois menggunakan kanule yang cukup halus pada kedalaman 1,2 cm. Setelah inokulasi virus, dengan cara yang sama, masing-masing sampel dengan berbagai seri kadar diinokulasikan ke dalam ruang alantois. Lubang kanul ditutup dengan parafin padat yang dicairkan, kemudian telur berembrio dieramkan dalam mesin tetas selama 2-3 hari pada suhu 37°C

c. Membuka Telur Berembrio yang Diinokulasi Virus

Setelah dieramkan selama 2-3 hari, telur disimpan dalam almari es semalam (18 jam). Kutub tumpul telur berembrio

disterilkan dengan alkohol 70%. Kerabang telur dipecahkan dengan pinset tajam, kemudian dibuat lubang sebesar atau lebih kecil dari rongga hawa. Embrio ditekan ke samping dengan pinset, cairan alantois yang terdapat di sisi embrio dihisap dengan spuit sebanyak 0,25 mL, selanjutnya cairan tersebut diteteskan di atas *96 well plate* untuk menguji ada tidaknya pertumbuhan virus. Sisanya disimpan dalam lemari es.

d. Uji Hemaglutinasi

Uji hemaglutinasi dilakukan dengan menggunakan *96 well plate* dengan dasar "U" mempunyai 96 sumuran. Langkah pertama mengisi lubang sumuran mikropelat dengan PBS (*Phosphat Buffer Saline*) sebanyak 0,5 mL, mulai dari lubang sumuran 1-11 pada semua lubang di mikropelat. Lubang *96 well plate* pada kelompok I, II dan III digunakan sebagai kelompok seri konsentrasi masing-masing 1 µg/mL, 10 µg/mL, dan 100 µg/mL, kelompok IV digunakan sebagai kontrol virus dan kelompok V digunakan sebagai kontrol positif. Lalu ditambahkan sebanyak 0,5 mL cairan alantois pada masing-masing lubang *96 well plate* sesuai dengan kelompoknya. Lubang sumuran 1 pada

kelompok I sampai kelompok III dan kelompok V diisi dengan cairan alantois pada masing-masing seri konsentrasi sebanyak 0,5 mL dari telur ayam berembrio yang telah mengandung ekstrak etanol daun tapak liman dan *Avian influenza*, pada baris IV diisi dengan cairan alantois telur ayam berembrio yang tidak diberi ekstrak etanol daun tapak liman (kontrol virus). Kontrol virus digunakan untuk mengetahui kemampuan virus dalam replikasinya. Lakukan pencampuran menggunakan mikrotiter masing-masing konsentrasi dengan cara digoyang selama 12 putaran dimulai dari lubang 1 sampai 11. Tambahkan sebanyak 0,5 mL eritrosit ayam 0,5% pada lubang kelompok I sampai kelompok V, *96 well plate* tersebut dibiarkan pada suhu kamar selama 15-20 menit. Pembacaan uji hemaglutinasi dilakukan dengan cara sebagai berikut, pada lubang yang menampakkan terjadinya endapan seperti pada lubang kontrol virus dinyatakan negatif HA sedangkan yang menunjukkan terjadinya aglutinasi (penggumpalan atau pengendapan) dinyatakan positif HA, yang berarti ekstrak yang diuji mempunyai daya hambat terhadap virus *Avian influenza*.

Pengolahan dan Analisis Data

Pada pengolahan data dan analisis dilakukan perhitungan titer yang ada pada mikro plate, dengan cara menghitung persentase penghambatannya. Perhitungan persentase penghambatan pertumbuhan virus oleh ekstrak etanol daun tapak liman, menggunakan rumus :

$$P = \left(\frac{A - B}{A} \right) \times 100\%$$

Dimana:

P : Persentase penghambatan infeksi

A : Jumlah titer pada telur ayam berembrio tanpa perlakuan ekstrak etanol daun tapak liman.

B : Jumlah titer pada telur ayam berembrio dengan perlakuan ekstrak etanol daun tapak liman.

(Kuswandi, 2008)

Data persentase hambatan antivirus dapat dianalisa secara statistik menggunakan program SPSS versi 17, Analisis data yang digunakan menggunakan uji T dengan taraf kepercayaan 95 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi Tanaman

Hasil determinasi tanaman tapak liman berdasarkan kunci determinasi adalah:

1b - 2b - 3b - 4a - 12b - 13b - 14b - 17b - 18b - 19b - 20b - 21b - 22b - 23a - 1b - 3a - 4b - 5a - 6a - 7b - 9b - 11b - 12b - 13b - 14b - 1 menyatakan bahwa spesimen tumbuhan tersebut adalah benar-benar tanaman *Elephantopus scaber* L. dari Famili *Asteraceae*. Hasil determinasi tersebut berdasarkan kunci-kunci determinasi yang mengacu pada buku Flora of Java Vol II karangan Backer & Bachuizen Van Den Brink, 1963 (lampiran 1).

Pembuatan Simplisia

Pada penelitian ini bagian tanaman tapak liman yang digunakan sebagai bahan penelitian adalah bagian daunnya. Tanaman tapak liman yang digunakan untuk penelitian diambil dari lingkungan Universitas Muhammadiyah Purwokerto desa Dukuwaluh kecamatan Kembaran Purwokerto Jawa Tengah (lampiran 4). Proses pengambilan tanaman dilakukan pada bulan November 2009, pada pagi hari sekitar pukul 09.00-11.00. ,Sortasi basah dilakukan dengan cara menghilangkan kotoran yang menempel pada daun tapak liman, seperti daun yang rusak, rumput kecil, tanah, kerikil, akar dan materi lainnya. Sehingga didapat daun tapak liman yang terbebas dari bahan-bahan atau pengotor yang

tidak diinginkan.kemudian dicuci dengan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kontaminan yang dimungkinkan masih menempel pada daun tapak liman setelah disortasi. Setelah dicuci dengan air mengalir daun tapak liman ditiriskan untuk menghilangkan air yang masih tersisa pada daun sehingga tidak menyulitkan pada waktu pengeringan. Pengeringan dilakukan di dalam lemari pengering dengan suhu 60°C., Daun tapak liman yang sudah mengalami proses pengeringan kemudian dihaluskan dengan menggunakan mesin penyerbuk, selanjutnya diayak dengan menggunakan ayakan dengan mesh 20/40 yang berarti sebanyak 100% simplisia kering lolos pada ayakan mesh 20, kemudian sebanyak 40% dari 100% simplisia kering lolos ayakan mesh 40, sehingga dari 100 gram simplisia kering daun tapak liman sebanyak 60 gram lolos ayakan mesh 20 dan sebanyak 40 gram lolos ayakan 40. Tujuan dari proses pembuatan simplisia menjadi serbuk adalah untuk memperkecil ukuran partikel sehingga akan memperbesar luas permukaan. Sehingga kontak antara serbuk dengan cairan penyari dapat lebih mudah dan cepat sehingga ekstraksi menjadi lebih maksimal dan

kandungan zat aktif dapat tersari secara optimal.

metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. dengan perbandingan antara simplisia dengan etanol 96% adalah 1:10 untuk hari pertama, dan remaserasi dengan perbandingan antara simplisia dengan etanol 96% adalah 1:4 untuk hari kedua. Penguapan dilakukan untuk menghilangkan penyari dari ekstrak agar tidak mempengaruhi uji aktivitas antivirus terhadap virus *Avian influenza*.

Deteksi Golongan Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Untuk deteksi golongan senyawa digunakan suatu metode yaitu kromatografi lapis tipis (KLT). KLT digunakan karena dapat memisahkan senyawa dalam waktu yang singkat. Digunakan fase diam yaitu lempeng kromatografi lapis tipis silika gel F_{254} dan lempeng selulosa. Fase gerak yang digunakan adalah beberapa kombinasi dari pelarut. Kemudian untuk identifikasi masing-masing dengan menggunakan pengamatan pada lampu UV 254 nm dan 366 nm dan dengan pereaksi semprot. Selanjutnya dilakukan perhitungan harga R_f dari masing-masing bercak. Dari hasil identifikasi kandungan senyawa aktif diketahui ekstrak mengandung

flavonoid, sekuesterpen lakton, dan steroid.

Uji Aktivitas Antivirus Terhadap Virus *Avian Influenza*

Uji aktivitas antivirus dilakukan dengan metode Hemaglutinasi (HA). Metode Hemaglutinasi merupakan suatu uji yang digunakan yaitu untuk mendeteksi virus yang memiliki hemaglutinin. Adanya hemaglutinin akan dapat mengaglutinasi eritrosit dari beberapa spesies unggas. Metode hemaglutinasi memerlukan kondisi yang steril terutama peralatan dan bahan yang digunakan.

Uji aktivitas antivirus dilakukan terhadap semua ekstrak etanol daun tapak liman hasil isolasi yang bertempat di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta (lampiran 2). Uji ini dibagi dalam 5 kelompok perlakuan pada semua ekstrak, masing-masing kelompok terdiri dari 3 telur ayam berembrio. Pada uji ini membutuhkan virus *Avian influenza* sebanyak 0,2 mL yang diinokulasikan pada telur ayam berembrio. Untuk masing-masing uji dilakukan dengan replikasi 3 kali, untuk kelompok I, II, dan kelompok III sebagai kelompok perlakuan masing-masing dibuat seri konsentrasi 1, 10, 100 $\mu\text{g/mL}$

yang ditambahkan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) yang berfungsi sebagai pelarut. Kelompok IV yaitu kontrol virus yang digunakan untuk mengetahui kemampuan virus dalam replikasi, sedangkan kelompok V yaitu sebagai kontrol positif yang digunakan sebagai pembandingan antara kelompok perlakuan dengan kelompok yang tidak ada penambahan ekstrak etanol daun tapak liman. Oseltamivir merupakan suatu obat yang spesifik untuk virus *Avian influenza* sub tipe H5N1. Mekanisme kerja oseltamivir sebagai inhibitor

neuraminidase (suatu protein yang terdapat pada permukaan virus *Avian influenza* yang berguna untuk berikatan dengan nucleoprotein yang terdapat pada permukaan sel inang). Hambatan terhadap neuraminidase mencegah terjadinya infeksi. Neuraminidase juga untuk pelepasan virus dari sel yang terinfeksi, yang meningkatkan penyebaran virus dan intensitas infeksi. Sehingga hambatan neuraminidase dapat menurunkan kemungkinan berkembangnya influenza dan menurunkan tingkat keparahan.

Tabel 1. Persentase daya hambat antivirus

Replikasi	Perlakuan			
	1 µg/mL	10 µg/mL	100 µg/mL	Kontrol positif
I	0%	0%	96,60%	93,75%
II	-1.500%	0%	96,875%	96,875%
III	50%	-700%	0%	96,875%
Rata-rata	-775%	-700%	96,737%	95,83%

Dari tabel diatas dapat diketahui persentase daya hambat antivirus, pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ diperoleh persentase penghambatan infeksi - 775%, Pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$ diperoleh persentase penghambatan - 700% dan pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ persentase daya penghambatnya 96,737%. Karena pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ dan 10 $\mu\text{g/mL}$ persentasenya bernilai negatif, sehingga dari data diatas dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ dan 10 $\mu\text{g/mL}$ tidak mempunyai efek/hambatan terhadap virus hal ini karena konsentrasi ekstrak terlalu kecil sehingga daya hambat terhadap virus tidak ada dan replikasi virus tetap berjalan. Adanya pengaruh dari sistem imun pada telur ayam berembrio juga mempengaruhi replikasi virus. Pada kontrol virus, titer yang dihasilkan pada kontrol virus lebih pendek dari pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ dan 10 $\mu\text{g/mL}$, hal tersebut pula yang menyebabkan hasil persentase daya hambat pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ dan 10 $\mu\text{g/mL}$ menjadi minus, sedangkan pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ mulai dapat mematikan virus dilihat dari persentase penghambatan yang diperoleh pada

konsentrasi tersebut yang bernilai positif senilai 96,737%.

Dari hasil penelitian dianalisis secara statistika dengan menggunakan analisis uji T dengan taraf kepercayaan 95 % pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ dan kontrol positif. Uji T yang digunakan merupakan uji dua pihak (*Two Tail Test*) dimana H_0 berbunyi sama dengan dan H_a berbunyi tidak sama dengan. Hasilnya diperoleh pada kontrol positif Nilai t hitung 4,998, sedangkan pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ nilai t hitung 6,708. Nilai t hitung hasil uji T lebih besar dari nilai t tabel 2,571, maka H_0 diterima yang artinya sama dengan atau dapat dikatakan bahwa konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ mempunyai kemampuan daya hambat yang sama dengan kontrol positif.

Dari hasil uji aktivitas antivirus ekstrak etanol daun tapak liman menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan virus. Penghambatan pertumbuhan virus tersebut dimungkinkan karena adanya senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun tapak liman yang mempunyai aktifitas antiviral. setelah dideteksi golongan senyawa menggunakan kromatografi lapis tipis bahwa pada ekstrak etanol

daun tapak liman tersebut mengandung suatu golongan senyawa flavonoid, seskuiterpen lakton, dan steroid.

Berdasarkan Robinson (1995) senyawa yang mempunyai aktifitas antivirus adalah golongan flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa fenol alam yang banyak dijumpai dalam tanaman. Flavonoid memiliki aktivitas farmakologi antara lain sebagai inhibitor pernapasan, menghambat fosfodiesterase, dan flavonoid lain juga menghambat aldoreduktase, monoamina oksidase, protein kinase, reverse transkriptase, DNA polimerase, dan lipooksigenase. Sedangkan menurut penelitian Orazov *et.al.* (2005), menunjukan bahwa flavonoid dari golongan flavonol dan flavon mampu menginvasi partikel virus. Flavonoid merupakan senyawa kimia yang sangat berguna pada tumbuhan maupun pada manusia. Fungsi flavonoid yang lain adalah berperan pada pengaturan pertumbuhan, fotosintesis dan pertahanan bagi tumbuhan. Flavonoid pada kadar rendah akan menyebabkan denaturasi protein dan pada kadar tinggi akan menyebabkan koagulasi protein sehingga sel akan mati.

Berdasarkan dari asumsi tersebut maka, salah satu dugaan mekanisme flavonoid sebagai antivirus yaitu menghambat enzim reverse transkriptase dari virus. Hal ini dikuatkan dengan sifat yang dimiliki oleh virus *Avian influenza*. Virus *Avian influenza* adalah golongan dari orthomyxovirus yang replikasi RNA dimulai dengan sintesis mRNA dengan bantuan transkriptasa virion. Dengan bantuan protein produk mRNA, RNA komplementer dibuat dan dijadikan cetakan untuk pembuatan RNA genom. Sifat segmentasi genom virus memudahkan terjadinya virus mutan (Syahrurahman, 1994).

Sesuai dari struktur dan komponen virus, *Avian influenza* mempunyai struktur protein terluar yaitu hemagglutinin dan neuroaminidase yang digunakan untuk menempel pada reseptor nukleoprotein yang terdapat pada eritrosit dan sel hospes, selanjutnya virus akan mengalami fusi dan melepaskan asam nukleat (uncoating) selanjutnya akan mengalami:

1. RNA virus oleh enzim reverse transkriptase virus menjadi mRNA, setelah itu mRNA mengalami translasi oleh ribosom membentuk protein-

protein amplop virus dan disisipkan kedalam membran plasma dari sel inang.

2. mRNA juga akan mengalami translasi membentuk enzim-enzim yang berhubungan dengan transkripsi, protein yang mengatur supresi transkripsi atau translasi oleh sel, dan protein yang mengatur supresi ekspresi gen awal virus.

3. Jika konsentrasi enzim yang diperlukan telah mencukupi, RNA akan mengadakan replikasi. RNA yang telah bereplikasi akan masuk kedalam membran plasma dan bergabung dengan protein virus dan membentuk kapsul baru yang siap menginfeksi sel inang lainnya.

Salah satu sifat flavonoid yaitu menghambat enzim reverse transriptase virus sehingga RNA virus tidak bisa disintesis menjadi cDNA sehingga DNA virus tidak terbentuk akibatnya tidak terjadi replikasi DNA virus dan transkripsi DNA virus menjadi mRNA virus tidak terjadi, akibatnya virus tidak bisa membuat protein dan enzim-enzim yang dibutuhkan oleh virus, terutama protein amplop virus sehingga kapsul virus tidak bisa

dibentuk, akibatnya virus tidak bisa bereplikasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh kesimpulan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) mempunyai aktivitas antivirus terhadap virus *Avian influenza* yaitu konsentrasi 100µg/mL mampu menghambat pertumbuhan virus *Avian influenza*
2. Golongan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak etanol daun tapak liman adalah flavonoid, steroid dan seskuiterpen lakton, yang diduga mempunyai aktivitas antivirus adalah senyawa adalah flavonoid-7-glukosil luteolin.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel, Howard C. 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi ke-IV*. Jakarta : UI Press.
- Arisandi, Y, dan Andriani, Y. 2006. *Khasiat Berbagai Tanaman untuk Pengobatan*. Jakarta: Eska Media
- Backer, C. A. R. C, and Van Den Brink, B,. 1965. *Flora of Java Vol II*. Wolters Nordroof N. V,. Groningen The Netherland.
- Burleson, Florence G., Thomas M. Chambers., Danny L.

- Wiedbrauk. 1992. *Virology A Laboratory Manual*. Academic Press, Inc. 1250 Sixth Avenue : San Diego, California.
- Cappuccino, J. D., and Natalie Sherman. 1983. *Mycrobiology A Laboratory Manual*. Sydney : Addison Wesley Pubishing Company.
- Clark, J. 2007. *Kromatografi lapis Tipis*. (http://www.bhem-is-try.org/materi_kimia/instrument_analisis/kromatografi_lapis_tipis). [Diakses pada tanggal 26 Mei 2010].
- Dalimarta, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid III*. Jakarta : Trubus Agriwijaya 154-158.
- Diniatik, dan Wahyuningrum, R. 2008. *Petunjuk Praktikum Fitokimia I*. Purwokerto : Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Depkes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta : Depkes.
- _____. 1986. *Sediaan Galenika*. Jakarta : Depkes RI.
- _____. 1987. *Materia Medika*. Jakarta : Depkes RI.
- _____. 1987. *Analisis Obat Tradisional jilid I*. Jakarta : Depkes RI.
- _____. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta : Depkes RI.
- _____. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Dewi, dkk. 2007. *Deteksi Virus avian Influenza Subtipe H5 pada Kucing jalanan (Felis silvestris catus) di Wilayah Kota Bandung*. Bandung: FKH Universitas Airlangga.
- Fadilah A., dan Polana A. 2005. *Aneka Penyakit Pada Ayam dan Cara Mengatasinya*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Geo F, B. Janet S, B. dan Stephen A, M. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi Pertama Bahasa Indonesia*. Penerjemah dr. Nani Widorini. Jakarta: Salemba medika
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Dan Cara Menganalisis Tumbuhan edisi ke-dua*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Penerbit ITB: Bandung
- Katzung, B.G. 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi Delapan*. Bagian farmakologi fakultas kedokteran universitas airlangga. Penerjemah dan editor. Terjemahan dari: *Basic & Clinical Pharmacology Eighth Edition*.
- Kuswandi, M., et al.. 2008. *Uji Daya Antiviral Infus Biji Srikaya (Annona Squamosa L) Pada Embrio Telur Ayam Dengan Virus Newcastle Disease (NDV) hal 1-3*. [terhubung berkala]. (<http://farm-area.blogspot.com/2008/07/uji-daya-antiviral-biji-srikaya.html>.) [diakses 12 maret 2010]

- Markham, K. R. 1988. *Cara mengidentifikasi flavonoid*. Terjemahan dari: *Technique of Flavonoids Identification*. Bandung: ITB
- Orazov, Oleg E., Nikita, and Valentine S., 2005. *Polyphenolic Compounds From The Some Species Of Geranium L. As An Immunostimulant Antiviral Agent At Cucurbitaceae Cultures*. Institute of Biology Russian Academy of Sciences, (<http://www.4iirc.com>) [diakses 3 April 2010].
- Prayogi, B. A, 2009. Aktivitas Antivirus Ekstrak Etanolik Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) terhadap Virus Newcastle Disease dan Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) [skripsi]. Purwokerto : Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Pujowati, P. 2006. *Pengenalan Ragam Tanaman Lanskap Asteraceae (Compositae)*. Laporan praktikum tanaman dan system ruang terbuka hijau. Sekolah paska sarjana departemen arsitektur lanskap fakultas pertanian institute pertanian bogor. http://freewebs.com/arl_ipb 2006 [05 Mei 2010]
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB
- Radji, M., 2006. *Avian Influenza (H5N1) Patogenesis, Pencegahan dan Penyebaran Pada Manusia*. Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Departemen Farmasi FMIPA-UI. (<http://jurnal.farmasi.ui.ac.id/pdf/2006/v03n02/maksum0302.pdf>) [Diakses pada tanggal 3 Februari 2010]
- Sardjito, R., dkk. 2002. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Jakarta : Binapura Aksara.
- Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kromatografi*. Yogyakarta : Liberty.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Bandung : ITB.
- Syahrurchman, A., dkk. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Jakarta : Binapura Aksara